

MASSENSPEKTROMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN—VII¹

DER EINFLUSS VON RINGGRÖSSE UND STEREOCHEMIE IN DEN MASSENSPEKTREN DER PERMETHYLIERTEN PENTOSEN

K. HEYNS und H. SCHARMANN
Institut für Organische Chemie-
der Universität Hamburg

(Received 27 August 1964)

Zusammenfassung—Es wurden die Massenspektren folgender Verbindungen aufgenommen: Methyl-2,3,4-tri-O-methyl- β ,D-pyranoside der Ribose, Arabinose, Xylose und Lyxose, Methyl-2,3,4-tri-O-methyl- α ,D-lyxopyranosid, Methyl-2,3,5-tri-O-methyl- β ,D-arabofuranosid und Methyl-2,3,5-tri-O-methyl- β ,D-arabofuranosid-5,5-d₂.

Die Massenspektren ermöglichen eine eindeutige Identifizierung der Stereoisomeren und ihrer Ringgrösse. Der Einfluss von Stereochemie und Ringgrösse kann mit Hilfe der bekannten Fragmentierungsprozesse bei permethylierten Pentosen erklärt werden.

Bei Strukturuntersuchungen von Kohlenhydraten sind sterische Zuordnung und Ringgrösse von besonderem Interesse. Methyläther haben sich als ausgezeichnete Derivate zur massenspektrometrischen Untersuchung von Kohlenhydraten bewährt.¹⁻⁶

Die Kombination mit Dünnschichtchromatographie⁷ bzw. Gaschromatographie¹ ermöglicht die Aufnahme von Massenspektren permethylierter Kohlenhydrate mit äusserst geringen Substanzmengen.

Die Massenspektren von stereoisomeren permethylierten Kohlenhydraten sind sehr ähnlich.^{3,5} In den Spektren von Stereoisomeren werden die gleichen Ionen gefunden. Es treten jedoch relative Intensitätsunterschiede auf, insbesondere bei solchen Ionen, die durch Umlagerung gebildet werden. Nach der Aufklärung der Fragmentierungsprozesse¹ bei permethylierten Pentosen ist eine Interpretation der relativen Intensitätsunterschiede in Abhängigkeit von der Stereochemie möglich.

Ein Vergleich der Massenspektren von methylierten Hexopyranosen und Hexofuranosen hat bereits gezeigt, dass eine massenspektrometrische Zuordnung der Ringgrösse eindeutig möglich ist.⁵ Dieses Ergebnis konnte bei dem methylierten Arabopyranosid bzw. Arabofuranosid bestätigt werden. Darüberhinaus ist eine Deutung der unterschiedlichen Zerfallswege und des Verbleibs der C₅-Seitenkette in den gebildeten Ionen möglich geworden.

Einfluss der Ringgrösse

Zum Vergleich wurden die Massenspektren von Methyl-2,3,4-tri-O-methyl- β ,D-arabopyranosid, Methyl-2,3,5-tri-O-methyl- β ,D-arabofuranosid und Methyl-2,3,5-tri-O-methyl- β ,D-arabofuranosid-5,5-d₂ aufgenommen (Abb. 1-3).

¹ K. Heyns und D. Müller, *Tetrahedron* **21**, 55 (1965).

² P. A. Finan, R. I. Reed und W. Snedden, *Chem. & Ind.* 1172 (1958).

³ K. Heyns und H. Scharmann, *Liebigs Ann.* **677**, 183 (1963).

⁴ K. Biemann und D. C. DeJongh, *J. Amer. Chem. Soc.* **85**, 2289 (1963).

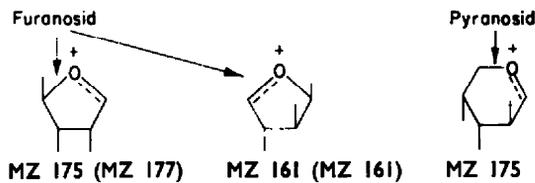
⁵ N. K. Kochetokov, N. S. Wulfson, O. S. Chizhov und B. M. Zolotarev, *Tetrahedron* **19**, 2209 (1963)

⁶ N. K. Kochetkov und O. S. Chizhov, *Biochim. Biophys. Acta* **83**, 134 (1964).

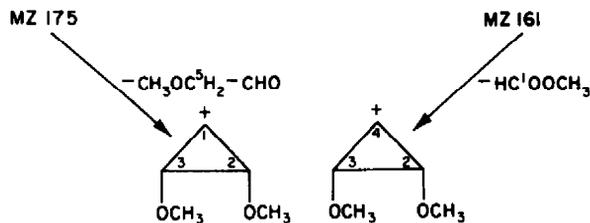
⁷ K. Heyns und H. F. Grützmaier, *Angew. Chem.* **74**, 387 (1962).

Die Eliminierung von $R-C^5HO$ ($R=H, CH_3, CH_2OCH_3$), die Abspaltung der glykosidischen Methoxygruppe und Aufspaltung der Ringbindung C1-C2 mit nachfolgender Umlagerung sind bei permethylierten Monosacchariden wichtige primäre Fragmentierungsschritte.^{1,3,5}

Die primäre Eliminierung von Formaldehyd aus dem Ringgerüst (MZ 176) ist beim Furanosid strukturell nicht möglich. Der Primärangriff an der glykosidischen Methoxygruppe ist unabhängig von der Ringgröße und führt zur Massenzahl 175 (MZ 177).^{*} Dies trifft in gleicher Weise zu für die nachfolgende zweimalige Eliminierung von Methanol: MZ 143 bzw. 111 (MZ 145 bzw. 113). In den Massenspektren permethylierter Furanoside tritt ein intensives Ion der MZ 161 auf. Konkurrierend zur Abspaltung der glykosidischen Methoxygruppe erfolgt beim Furanosid eine Fragmentierung der C-5-Seitenkette:



Sekundäre Methanol-Eliminierung aus dem Ion MZ 161 führt zu MZ 129 (MZ 129). Auffallend ist im Massenspektrum des Furanosids die deutlich bevorzugte Bildung des Haupt-Ions MZ 101 (MZ 101). Die Entstehung kann gedeutet werden ausgehend vom Molekül-Ion durch Eliminierung von Methoxyacetaldehyd ($C5-C4-O$) und Abspaltung eines Methoxy-Radikals und ausgehend von den Primärbruchstücken MZ 175 bzw. 161 unter Verlust von Methoxyacetaldehyd bzw. Methylformiat.



Im Gegensatz zu den Massenspektren methylierter Pyranoside muss beim Furanosid für die MZ 101 primär eine cyclische Struktur angenommen werden mit beiden Methoxygruppen an den C-Atomen 2 und 3. Eine sekundäre Umlagerung in eine Allylstruktur muss in Betracht gezogen werden.

Die Bildung des bei dem Pyranosid sehr intensiven Ions MZ 88 ist beim Furanosid stark in den Hintergrund getreten. Hierfür sind zwei Gründe massgebend. Es entfällt die einfache Fragmentierung des Primär-Bruchstückes MZ 176, das beim Furanosid nicht gebildet werden kann. Die Primäerspaltung $C-1 \xi C-2$ ist energetisch sehr ungünstig, da neben Methylformiat das sehr instabile Bruchstück $CH_3OCH_2-\bar{C}H$ entstehen müsste. Die nachfolgende Stabilisierung des Radikal-Ions MZ 88 unter Verlust eines Methylradikals zur MZ 73 führt beim Furanosid erwartungsgemäss zu einem Ion sehr geringer Intensität.

* Die in Klammern angegebenen Massenzahlen entsprechen der 5,5-d₂ markierten Verbindung.

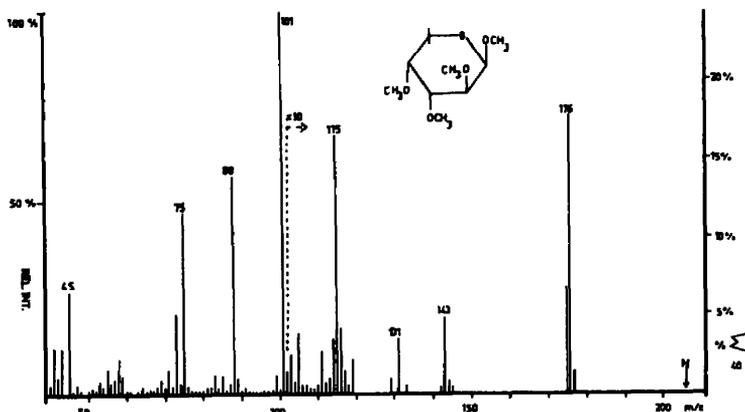


ABB. 1. Methyl-2,3,4-tri-O-methyl- β -D-arabopyranosid.

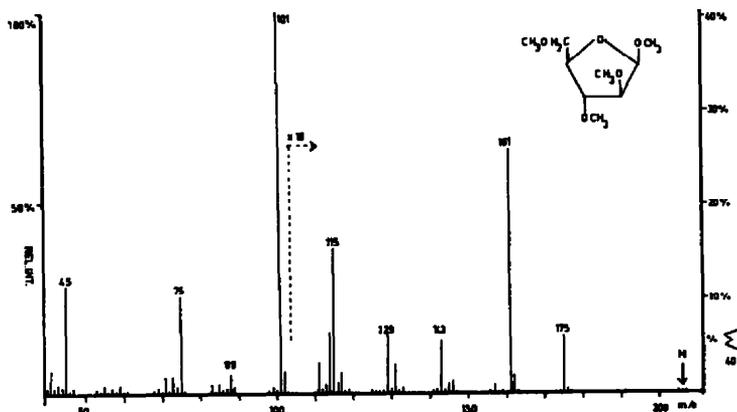


ABB. 2. Methyl-2,3,5-tri-O-methyl- β -D-arabofuranosid.

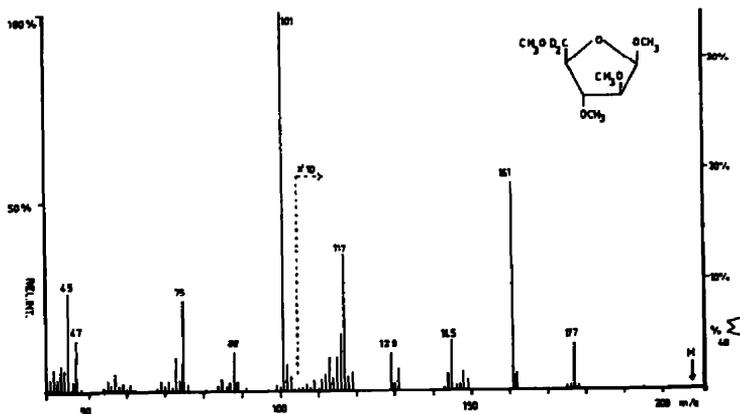


ABB. 3. Methyl-2,3,5-tri-O-methyl- β -D-arabofuranosid-5,5- d_2 .

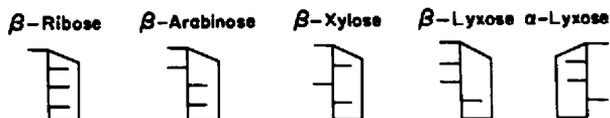
Das Ausbleiben einer Massenverschiebung im Spektrum des markierten Furano-sids bei den MZ 131 und 75 bestätigt die von Heyns und Müller in den Primärspaltungen A bzw. C angegebenen Bildungswege.¹

Die Massenspektren der permethylierten Pyranoside bzw. Furanoside ermöglichen eine eindeutige Festlegung der Ringgröße. Im Spektrum des Furanosids fehlt das intensive Ion MZ 176. Es tritt neu hinzu das Fragment-Ion MZ 161. Dieses charakteristische Ion bleibt auch im Spektrum der permethylierten 5-Glucosido-glucose, bei der ein Glucosebaustein in der Furanose-Form vorliegt, erhalten.

Einfluss der Stereochemie

In Tabelle I sind die relativen Intensitäten, bezogen auf den Gesamt-Ionenstrom Σ_{40} der untersuchten stereoisomeren permethylierten Methyl-pentopyranoside, angegeben. Im Massenbereich bis MZ 101 sind nur Ionen mit einem Beitrag $> 0.5\%$ relative Intensität Σ_{40} berücksichtigt.

Das folgende Schema veranschaulicht die massenspektrometrisch untersuchten Methyl-2,3,4-trimethyl-pentopyranoside



Massenspektrometrische Untersuchungen erfordern die Überführung der zu messenden Probe in die Gasphase. Konformationsbetrachtungen an gasförmig vorliegenden permethylierten Methylpyranosiden sind bisher nicht durchgeführt worden. Es soll daher bei der Deutung der Unterschiede in den Massenspektren der Stereoisomeren nur die Konfiguration, insbesondere an den C-Atomen, die an einer Fragmentierung beteiligt sind, berücksichtigt werden.

Primärspaltung A: Eliminierung von Formaldehyd aus dem Ring (M — C⁶H₂O, MZ 176)

Die Extremwerte der relativen Intensität liegen bei der Ribose (2.43%) und Xylose (1.42%). In der Ribose stehen die Methoxygruppen an C-1, C-2 und C-3 alle in *cis*-Stellung und begünstigen offenbar sterisch die Eliminierung von C-5 mit dem Ringsauerstoff als Formaldehyd. Bei *trans*-Stellung aller Substituenten (Xylose) erfolgt diese Primärspaltung in wesentlich geringerer Masse. Ein Vergleich der Spektren der Methyl- α - bzw. - β -lyxopyranoside bestätigt die Erleichterung der Formaldehyd-Eliminierung durch *cis*-ständige Methoxy-Gruppen. Im α -Anomeren, bei dem die *cis*-Stellung an C-1-C-2 entfällt, sinkt die Intensität für das Ion MZ 176 stark ab.

Als Folgefragmentierung der Primärspaltung A ist die C-3 \rightarrow C-1-Wanderung einer Methoxygruppe und Abspaltung eines HC (OCH₃)₂-Radikals unter Ausbildung des Ions MZ 101 bekannt:¹



Die relativen Intensitäten sind bei dem Paar Ribose-Arabinose deutlich höher als bei Xylose-Lyxose (Tab. 1). Ein Vergleich der Konfiguration der beiden Gruppen zeigt, dass bei *trans*-Stellung der Substituenten an C-1 und C-3 die Wanderung der

TABELLE 1. MASSENSPEKTREN VON
 METHYL-2,3,4-TRI-O-METHYL- β ,D-RIBO-PYRANOSID,
 METHYL-2,3,4-TRI-O-METHYL- β ,D-ARABO-PYRANOSID,
 METHYL-2,3,4-TRI-O-METHYL- β ,D-XYLO-PYRANOSID,
 METHYL-2,3,4-TRI-O-METHYL- β ,D-LYXO-PYRANOSID UND
 METHYL-2,3,4-TRI-O-METHYL- α ,D-LYXO-PYRANOSID

MZ	β Me RIBOSE	β Me ARABINOSE	β Me XYLOSE	β Me LYXOSE	α Me LYXOSE
41	2·67	2·93	6·00	2·97	2·47
42	0·73	1·00	1·23	0·88	1·03
43	2·52	2·80	2·87	2·85	2·33
45	9·28	6·49	5·10	9·17	7·65
53	0·47	0·76	0·99	0·50	0·72
55	1·37	1·58	2·73	1·47	1·22
56	0·40	0·56	1·78	0·56	0·45
57	0·57	0·88	2·33	0·92	0·60
58	2·36	2·15	2·45	2·71	2·43
59	1·16	1·07	0·80	1·29	1·13
69	0·71	0·85	1·01	0·86	0·72
71	1·51	1·46	1·40	1·85	1·38
73	6·40	5·00	4·35	6·69	6·76
74	0·97	0·71	0·57	0·98	0·72
75	11·17	11·63	9·49	9·93	11·55
83	0·73	1·10	0·80	0·82	0·76
85	1·06	1·10	1·01	0·98	0·87
88	15·28	13·90	13·15	20·10	20·62
89	0·92	0·98	0·80	1·25	1·20
99	0·66	1·15	0·63	0·88	0·76
101	23·62	24·40	18·98	17·59	20·63
102	1·35	1·39	1·14	1·00	1·08
111	0·09	0·27	0·23	0·20	0·18
115	1·35	1·66	1·08	1·17	1·40
129	0·10	0·10	0·11	0·13	0·08
131	0·21	0·34	0·25	0·22	0·25
143	0·15	0·49	0·17	0·42	0·31
175	0·10	0·68	0·21	0·56	0·39
176	2·43	1·78	1·42	2·15	1·26
177	0·19	0·15	0·16	0·19	0·11

Methoxygruppe, d.h. die Bildung des Ions MZ 101, bevorzugt verläuft. Die Spektren des α - bzw. β -Lyxosids bestätigen diesen Befund. Die relative Intensität ist beim α -Lyxosid höher als beim β -Lyxosid, bei dem die Methoxygruppen an C-1 und C-3 in *cis*-Stellung stehen.

Primärspaltung B: Abspaltung der glykosidischen Methoxygruppe und anschließende Methanol-Eliminierung (MZ 175 und 143)

Die relativen Intensitäten des Ions MZ 175 sind in den Spektren von Arabinose und β -Lyxose deutlich höher als in den Spektren der Gruppe Ribose-Xylose. Bei *cis*-Stellung der beiden Methoxygruppen an C-1 und C-2 erfolgt also eine leichtere Abspaltung der glykosidischen Gruppe. Eine mögliche Deutung dieses Unterschiedes ist eine sterische Hinderung der *cis*-ständigen Gruppen bzw. eine günstigere Abschirmung der positiven Ladung durch den Substituenten an C-2.

Der entscheidende Einfluss der Konfiguration an C-1 und C-2 bei der Primärspaltung B wird ebenso deutlich im Spektrum des α -Lyxopyranosids, mit einer *trans*-Gruppierung der Methoxygruppen an C-1 und C-2. Die relative Intensität ist niedriger als bei der β -Form.

Die unterschiedlichen Intensitätsverhältnisse bei der MZ 175 lassen sich im anschließenden Fragmentierungsschritt—Eliminierung von Methanol zur MZ 143— in gleicher Weise weiterverfolgen.

Primärspaltung C: Spaltung der Bindung C-1 ξ C-2 unter Entstehung der Ionen MZ 75 und 88

(a) *Bildung der MZ 75 ($\text{CH}_3\text{O}=\text{C}^+\text{H}=\text{OCH}_3$) unter C-3 \rightarrow C-1-Wanderung einer Methoxygruppe.* Entsprechend der durch Methoxygruppen-Wanderung erfolgenden Bildung der Ionen MZ 101 wird die gleiche Abhängigkeit von der Konfigurationsbeziehung an C-1 und C-3 gefunden: *trans*-Stellung (Ribose-Arabinose) führt zu höherer Intensität des Ions MZ 75 als *cis*-Stellung (Xylose-Lyxose). Die höhere Intensität des Ions MZ 75 im Massenspektrum des α -Lyxosids, verglichen mit der des β -Lyxosids, ist eine weitere Stütze für den gefundenen Zusammenhang von Intensität der durch Umlagerung gebildeten Ionen und der Stellung der Methoxygruppen an den beteiligten C-Atomen.

(b) *Bildung der MZ 88 ($\text{CH}_3\text{OCH}^+-\text{CHOCH}_3$) durch Spalten der Bindung C-3 ξ C-4.* Auffallend ist die hohe Intensität des Ions MZ 88 im Massenspektrum des β -Lyxosids. Es wird hier zum Haupt-Ion des Gesamtspektrums. Ein Vergleich der Spektren von α - und β -Lyxosid zeigt, dass das Ion MZ 88 in beiden Fällen nahezu gleiche Intensität besitzt und die Stellung der Methoxygruppe an C-1 ohne Einfluss auf die Bildung dieses Ions ist.

Von entscheidendem Einfluss hingegen ist die Stellung der Substituenten an C-2 und C-3. Diese beiden C-Atome sind vorwiegend im C_2 -Bruchstück MZ 88 enthalten.¹ Bei den Stereoisomeren mit *cis*-Stellung der Methoxygruppen an C-2 und C-3 ist die Intensität des Ions MZ 88 höher (Ribose, Lyxose). Daneben ist von Bedeutung die Stellung der Substituenten an C-3 und C-4, den C-Atomen, deren Bindung aufgespalten wird. Die höhere Intensität des Ions MZ 88 in den Spektren der Lyxoside gegenüber der des Ribosids ist offenbar durch eine günstigere Spaltung der *trans*-substituierten Bindung C-3—C-4 zu erklären.

Die gleichen Intensitätsverhältnisse wie bei dem Ion MZ 88 sind bei dem daraus durch Abspaltung eines Methylradikals entstehenden Bruchstück MZ 73 zu beobachten.

Die aufgefundenen Intensitätsunterschiede in den Massenspektren der stereoisomeren Methyl-2,3,4-tri-O-methyl- β ,D-pentopyranoside ermöglichen eine eindeutige sterische Zuordnung. Hierzu ist nur ein Vergleich der Intensitäten weniger Ionen notwendig (Tab. 1).

Das β -Lyxosid ist eindeutig daran zu erkennen, dass das Ion MZ 88 im Gegensatz zu den anderen Isomeren Haupt-Ion des Massenspektrums ist. Das β -Ribosid ist auf Grund der extrem geringen Intensität des Primär-Fragmentes MZ 175 leicht zuzuordnen. Das β -Arabonosid und β -Xylosid sind dadurch zu unterscheiden, dass die Intensität des Ions MZ 143 beim β -Arabinosid grösser ist als die des Ions MZ 131. Beim β -Xylosid sind die Intensitätsverhältnisse umgekehrt.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Massenspektren (70 eV-Spektren) wurden mit einem Massenspektrometer Typ CH 4 der ATLAS Mess- und Analysetechnik GmbH Bremen aufgenommen. Der Einlass erfolgte über den Hochtemperatureinlassteil bei 150°. Das Methyl-2,3,5-tri-O-methyl-arabofuranosid-5,5-d₂ wurde direkt aus dem Gaschromatographen eingeleitet.

Die Darstellung der untersuchten Substanzen erfolgte nach den in der Literatur beschriebenen Verfahren.

Wir danken dem Bundesministerium für wissenschaftliche Forschung für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.